

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2020116579, 25.10.2018

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

25.10.2017 US 62/577,099;

02.03.2018 US 62/637,854

(43) Дата публикации заявки: 25.11.2021 Бюл. № 33

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 25.05.2020

(86) Заявка РСТ:

US 2018/057545 (25.10.2018)

(87) Публикация заявки РСТ:

WO 2019/084288 (02.05.2019)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б.Спасская, 25, строение 3,  
ООО "Юридическая фирма Городисский и  
Партнеры"

(71) Заявитель(и):

**НОВАРТИС АГ (СН),****ДЗЕ ТРАСТИЗ ОФ ДЗЕ ЮНИВЕРСИТИ****ОФ ПЕНСИЛЬВАНИЯ (US)**

(72) Автор(ы):

**ФРАЙЕТТА, Джозеф, А. (US),****МИЛЕНХОРСТ, Ян, Дж. (US),****ОРЛАНДО, Елена (US),****О'КОННОР, Родерик (US),****ДЖУН, Карл, Х. (US)**(54) **СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ КЛЕТОК, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ХИМЕРНЫЙ АНТИГЕННЫЙ РЕЦЕПТОР**

## (57) Формула изобретения

1. Способ получения популяции иммунных эффекторных клеток, экспрессирующих химерный антигенный рецептор (CAR), включающий:

- а) получение популяции иммунных эффекторных клеток, например, Т-клеток;
- б) приведение популяции иммунных эффекторных клеток в контакт с нуклеиновой кислотой, кодирующей полипептид CAR;
- с) приведение популяции иммунных эффекторных клеток в контакт с активатором Stat3; и
- д) выдерживание клеток в условиях, которые обеспечивают возможность экспрессии полипептида CAR,

за счет чего обеспечивается получение популяции иммунных эффекторных клеток, экспрессирующих CAR.

2. Способ по п. 1, где активатор Stat3 выбран из одного, двух, трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми или всех или любой комбинации из:

- и) активатора gp130, например, молекулы антитела, которая связывается с gp130, например, антитела к gp130, описанного в данном документе или молекулы IL-6, молекулы IL-11, молекулы IL-27, молекулы CNTF, молекулы CT-1, молекулы CLC, молекулы LIF, молекулы NP, молекулы OSM;

ii) растворимого рецептора IL-6 (sIL-6R), например, описанного в данном документе;  
iii) комплекса IL-6/IL-6R, например, димера, например, описанного в данном документе;

iv) цитокина из семейства IL-6 (например, молекулы IL-6, молекулы IL-11, молекулы IL-27, молекулы IL-31, молекулы CNTF, молекулы CT-1, молекулы CLC, молекулы LIF, молекулы NP или молекулы OSM);

v) молекулы CCL20;

vi) активатора рецептора IL-10R2 (IL-10R2), например, молекулы IL-10, молекулы IL-22, молекулы IL-26, молекулы IL-28A, молекулы IL-28B, молекулы IL-29 или молекулы антитела, которая связывается с IL-10R2, например, описанной в данном документе;

vii) цитокина из семейства IL-10 (например, молекулы IL-10, молекулы IL-19, молекулы IL-20, молекулы IL-22, молекулы IL-24, молекулы IL-26, молекулы IL-28A, молекулы IL-28B или молекулы IL-29);

viii) цитокина из семейства IL-17 (например, молекулы IL17A, молекулы IL17B, молекулы IL17C, молекулы IL17D, молекулы IL17E или молекулы IL17F); или

ix) молекулы IL-23.

3. Способ по п. 1 или 2, где способ дополнительно включает введение в по меньшей мере одну клетку в популяции иммунных эффекторных клеток:

молекулы gp130, например, путем введения в по меньшей мере одну клетку в популяции иммунных эффекторных клеток нуклеиновой кислоты, кодирующей молекулу gp130, в условиях, которые обеспечивают возможность трансляции молекулы gp130; или

молекулы Stat3 (например, конститутивно активной молекулы Stat3 (STAT3C)), например, путем введения в по меньшей мере одну клетку в популяции иммунных эффекторных клеток нуклеиновой кислоты, кодирующей молекулу Stat3, в условиях, которые обеспечивают возможность трансляции молекулы Stat3.

4. Способ получения популяции иммунных эффекторных клеток, экспрессирующих химерный антигенный рецептор (CAR), включающий:

a) получение популяции иммунных эффекторных клеток, например, Т-клеток;

b) приведение популяции иммунных эффекторных клеток в контакт с нуклеиновой кислотой, кодирующей полипептид CAR;

c) введение в по меньшей мере одну клетку в популяции иммунных эффекторных клеток:

молекулы gp130, например, путем введения в по меньшей мере одну клетку в популяции иммунных эффекторных клеток нуклеиновой кислоты, кодирующей молекулу gp130, в условиях, которые обеспечивают возможность трансляции молекулы gp130; или

молекулы Stat3 (например, конститутивно активной молекулы Stat3 (STAT3C)), например, путем введения в по меньшей мере одну клетку в популяции иммунных эффекторных клеток нуклеиновой кислоты, кодирующей молекулу Stat3, в условиях, которые обеспечивают возможность трансляции молекулы Stat3; и

d) выдерживание клеток в условиях, которые обеспечивают возможность экспрессии полипептида CAR, молекулы gp130 или молекулы Stat3,

за счет чего обеспечивается получение популяции иммунных эффекторных клеток, экспрессирующих CAR.

5. Способ по п. 4, где способ дополнительно включает приведение популяции иммунных эффекторных клеток в контакт с активатором Stat3, выбранным из одного, двух, трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми или всех или любой комбинации из:

i) активатора gp130, например, молекулы антитела, которая связывается с gp130, например, антитела к gp130, описанного в данном документе или молекулы IL-6,

молекулы IL-11, молекулы IL-27, молекулы CNTF, молекулы CT-1, молекулы CLC, молекулы LIF, молекулы NP, молекулы OSM;

ii) растворимого рецептора IL-6 (sIL-6R), например, описанного в данном документе;  
iii) комплекса IL-6/IL-6R, например, димера, например, описанного в данном документе;

iv) цитокина из семейства IL-6 (например, молекулы IL-6, молекулы IL-11, молекулы IL-27, молекулы IL-31, молекулы CNTF, молекулы CT-1, молекулы CLC, молекулы LIF, молекулы NP или молекулы OSM);

v) молекулы CCL20;

vi) активатора рецептора IL-10R2 (IL-10R2), например, молекулы IL-10, молекулы IL-22, молекулы IL-26, молекулы IL-28A, молекулы IL-28B, молекулы IL-29 или молекулы антитела, которая связывается с IL-10R2, например, описанной в данном документе;

vii) цитокина из семейства IL-10 (например, молекулы IL-10, молекулы IL-19, молекулы IL-20, молекулы IL-22, молекулы IL-24, молекулы IL-26, молекулы IL-28A, молекулы IL-28B или молекулы IL-29);

viii) цитокина из семейства IL-17 (например, молекулы IL17A, молекулы IL17B, молекулы IL17C, молекулы IL17D, молекулы IL17E или молекулы IL17F); или

ix) молекулы IL-23.

6. Способ по любому из пп. 3-5, где экспрессия молекулы gp130 или молекулы Stat3 является транзиторной (например индуцируемой или неиндуцируемой) или конститутивной.

7. Способ по любому из пп. 3-6, где молекулу gp130 или молекулу Stat3 вводят в популяцию иммунных эффекторных клеток до приведения популяции иммунных эффекторных клеток в контакт с:

нуклеиновой кислотой, кодирующей полипептид CAR; или

активатором Stat3, например, описанным в данном документе, одновременно с этим или после этого.

8. Способ по п. 3 или 4, где нуклеиновая кислота, содержащая нуклеотид, кодирующий молекулу Stat3 (например, конститутивно активную Stat3 (STAT3C)), дополнительно содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую CAR, например, CAR для CD19.

9. Способ по любому из пп. 1-3 или 5-8, где активатор Stat3 представляет собой молекулу антитела, которая связывается с gp130, например, антитело к gp130, описанное в данном документе.

10. Способ по п. 9, который приводит к получению популяции Т-клеток, например, CD4+ или CD8+ Т-клеток, которая обогащена, например, Т-клетками ранней памяти или неистощенными Т-клетками ранней памяти.

11. Способ по п. 10, где Т-клетки ранней памяти имеют одну или обе из следующих характеристик: CD27+ и/или CD45RO<sup>dim/neg</sup>.

12. Способ по п. 10, где неистощенные Т-клетки ранней памяти имеют одну или несколько, например, все из следующих характеристик: (i) PD-1-отрицательные; (ii) CD27<sup>hi</sup>; (iii) CCR7<sup>hi</sup> или (iv) CD45RO<sup>dim/neg</sup>.

13. Способ по любому из пп. 10-12, где обогащенная популяция Т-клеток, например, Т-клеток ранней памяти или неистощенных Т-клеток ранней памяти, например имеет увеличенный уровень или количество, например, на по меньшей мере 5%, например, на 5-90% больше (например, на по меньшей мере 5-10, 10-20, 20-30, 30-50, 50-70 или 70-90% больше, например, на по меньшей мере 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30% больше), Т-клеток ранней памяти или неистощенных Т-клеток ранней памяти по сравнению со сходной в иных отношениях

популяцией Т-клеток, которая не была приведена в контакт с активатором Stat3.

14. Способ по любому из пп. 1-3 или 5-8, где активатор Stat3 содержит одну, две, три или все из молекулы IL-6, молекулы IL-17, молекулы IL-22 или молекулы CCL20.

15. Способ по любому из пп. 1-3 или 5-9, где активатор Stat3 представляет собой встречающуюся в природе молекулу, рекомбинантную молекулу или очищенную молекулу.

16. Способ по любому из пп. 1-3 или 5-10, где активатор Stat3 не присутствует в сыворотке крови, например, не присутствует в количестве, достаточном для активации Stat3, например, фосфорилирования Stat3, например, по тирозину 705 (Y705), например, согласно измерению с помощью анализа из примера 2.

17. Способ по любому из пп. 1-16, где активатор Stat3 расположен, например иммобилизован, на субстрате, например, на грануле или клетке.

18. Способ по п. 17, где активатор Stat3 расположен на клетке с активатором Stat3.

19. Способ по п. 18, где клетка с активатором Stat3 представляет собой искусственную антигенпрезентирующую клетку.

20. Способ по любому из пп. 17-19, где активатор Stat3 экспрессируется клеткой с активатором Stat3 или конъюгирован с поверхностью клетки с активатором Stat3.

21. Способ по любому из пп. 1-3, 5 или 9-20, где активатор Stat3, например, описанный в данном документе, предоставляют в количестве, достаточном для активации Stat3, например, фосфорилирования Stat3, например, по тирозину 705 (Y705), например, согласно измерению с помощью анализа из примера 2.

22. Способ по любому из пп. 1-3, 5 или 9-21, где активатор Stat3, например, описанный в данном документе, предоставляют в количестве, достаточном для увеличения размера популяции иммунных эффекторных клеток в по меньшей мере 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 раз или больше после 12-дневного периода культивирования, например, согласно измерению с помощью анализа из примера 2, по сравнению со сходной в иных отношениях популяцией клеток, культивируемой в аналогичных условиях, но не приведенной в контакт с активатором Stat3.

23. Способ по любому из пп. 1-3, 5 или 9-22, где активатор Stat3, например, описанный в данном документе, предоставляют в количестве, достаточном для увеличения в популяции иммунных эффекторных клеток процентной доли клеток, которые являются CD27+ PD-1-, например, в по меньшей мере 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 2, 3, 4, 5 раз или больше по сравнению со сходной в иных отношениях популяцией клеток, культивируемой в аналогичных условиях, но не приведенной в контакт с активатором Stat3.

24. Способ по любому из пп. 1-3, 5 или 9-23, где активатор Stat3, например, описанный в данном документе, предоставляют в количестве, достаточном для увеличения уровня экспрессии gr130 в по меньшей мере 1,5, 2, 3, 4, 5, 10 раз или больше в популяции иммунных эффекторных клеток, например, согласно измерению с помощью анализа из примера 2, по сравнению со сходной в иных отношениях популяцией клеток, культивируемой в аналогичных условиях, но не приведенной в контакт с активатором Stat3.

25. Способ по любому из пп. 1-3, 5 или 9-24, где активатор Stat3, например, описанный в данном документе, выбран из одной, двух, трех, четырех или всех (например, пяти) из молекулы IL-6, молекулы IL-17, молекулы IL-22, молекулы IL31 и молекулы CCL20.

26. Способ по любому из пп. 1-3, 5 или 9-25, где активатор Stat3, например, описанный в данном документе, включает в себя молекулу IL-6, например, рекомбинантный IL-6.

27. Способ по п. 21, где молекулу IL-6, например, рекомбинантный IL-6, предоставляют в количестве, составляющем по меньшей мере 1, 5, 10, 15, 20 или 30 нг/мл или находящемся в диапазоне 1-20, 1-15 или 5-15 нг/мл, например, составляющем по меньшей мере 10 нг/мл.

28. Способ по пп. 2, 5 или 9-13, где молекула антитела к gp130 выбрана из B-S12 или B-P8 или молекулы антитела имеющей 1, 2, 3, 4, 5 или 6 CDR из B-S12 или B-P8.

29. Способ по п. 28, который включает приведение популяции иммунных эффекторных клеток в контакт как с B-S12, так и с B-P8.

30. Способ по любому из п. 28 или 29, где общее количество молекулы антитела к gp130 составляет приблизительно 0,1-1000, 0,5-500 или 1-100 мкг/мл.

31. Способ по любому из пп. 28-29, где молекулу антитела к gp130 предоставляют в количестве, составляющем по меньшей мере 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9 или 2 мкг/мл, например, приблизительно 1 мкг/мл.

32. Способ по любому из пп. 28-31, где антитело к gp130:

индуцирует опосредованную gp130 передачу сигнала измеряемую по фосфорилированию STAT3; или

индуцирует димеризацию, например, гомодимеризацию gp130 или гетеродимеризацию gp130, например, с LIF, OSM или CNTF.

33. Способ по любому из предыдущих пунктов, где популяция клеток, культивируемая в присутствии активатора Stat3, например, описанного в данном документе, демонстрирует:

активацию Stat3, например, фосфорилирование Stat3, например, по тирозину 705 (Y705), например, согласно измерению с помощью анализа из примера 2;

увеличение размера популяции иммунных эффекторных клеток в по меньшей мере 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 раз или больше после 12-дневного периода культивирования, например, согласно измерению с помощью анализа из примера 2;

увеличение в популяции иммунных эффекторных клеток процентной доли клеток, которые являются CD27+ PD-1-, например, в по меньшей мере 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 2, 3, 4, 5 раз или больше; и/или

увеличение в популяции иммунных эффекторных клеток уровня экспрессии gp130 в по меньшей мере 1,5, 2, 3, 4, 5 или 10 раз или больше, например, согласно измерению с помощью анализа из примера 2,

по сравнению со сходной в иных отношениях популяцией клеток, культивируемой в аналогичных условиях, но не приведенной в контакт с активатором Stat3.

34. Способ по любому из предыдущих пунктов, включающий увеличение размера популяции, например, в течение по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 дня или в течение 1-7, 7-14 или 14-21 дня.

35. Способ по любому из предыдущих пунктов, дополнительно включающий анализ активации сигнального пути Stat3 в популяции иммунных эффекторных клеток посредством измерения уровня или активности транскрипционных мишеней Stat3, например, c-Myc, c-Fos, Sox2, Bcl-2 или RORC, с определением величины активации сигнального пути Stat3.

36. Способ по п. 35, дополнительно включающий сравнение величины активации сигнального пути Stat3 с эталонной величиной, где эталонная величина получена из сходной в иных отношениях популяции иммунных эффекторных клеток, культивируемой в аналогичных условиях, но не приведенной в контакт с активатором Stat3, например, описанным в данном документе.

37. Способ по любому из предыдущих пунктов, дополнительно включающий, с учетом результатов сравнения величины активации сигнального пути Stat3 с эталонной величиной, проведение одного или нескольких из:

классификации популяции как подходящей или не подходящей для применения в качестве терапевтического средства;

составления или упаковывания популяции или ее аликвоты для терапевтического применения или

изменения параметра культивирования, например, i) изменения продолжительности времени культивирования или ii) увеличения или уменьшения концентрации активатора Stat3, например, описанного в данном документе.

38. Способ получения популяции иммунных эффекторных клеток, экспрессирующих химерный антигенный рецептор (CAR), включающий:

- а) получение популяции иммунных эффекторных клеток, например, Т-клеток;
- б) приведение популяции иммунных эффекторных клеток в контакт с нуклеиновой кислотой, кодирующей полипептид CAR;
- с) приведение популяции иммунных эффекторных клеток в контакт с ингибитором гликолиза, например, низкомолекулярным ингибитором гликолиза, например, низкомолекулярным ингибитором гексокиназы, например, аналогом глюкозы, например, 2-дезоксид-Д-глюкозой (2-DG) и
- д) выдерживание клеток в условиях, которые обеспечивают возможность экспрессии полипептида CAR,

за счет чего обеспечивается получение популяции иммунных эффекторных клеток, экспрессирующих CAR.

39. Способ по п. 38, где ингибитор гликолиза, например, низкомолекулярный ингибитор гликолиза, например, низкомолекулярный ингибитор гексокиназы, например, аналог глюкозы, например, 2-DG, добавляют в количестве, достаточном для:

увеличения популяции иммунных эффекторных клеток на по меньшей мере 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100% или больше; или

увеличения в популяции иммунных эффекторных клеток процентной доли клеток, которые имеют фенотип центральных клеток памяти, например, являются CD45RO+CCR7+, например, на по меньшей мере приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100% или больше;

по сравнению со сходной в иных отношениях популяцией клеток, культивируемой в аналогичных условиях, но не обработанной ингибитором гликолиза.

40. Способ по п. 38 или 39, где ингибитор гликолиза, например, 2-DG, добавляют в концентрации, составляющей по меньшей мере 0,5, 1, 1,5, 2 или 2,5 мМ, 0,5-2,5 мМ или 1-2 мМ.

41. Способ по любому из пп. 38-40, где популяция клеток, культивируемая в присутствии ингибитора гликолиза, демонстрирует:

увеличение популяции иммунных эффекторных клеток на по меньшей мере 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100% или больше; или

увеличение в популяции иммунных эффекторных клеток процентной доли клеток, которые имеют фенотип центральных клеток памяти, например, являются CD45RO+CCR7+, например, на по меньшей мере приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100% или больше;

по сравнению со сходной в иных отношениях популяцией клеток, культивируемой в аналогичных условиях, но не обработанной ингибитором гликолиза.

42. Способ по любому из пп. 38-41, включающий:

увеличение размера популяции, например, в течение по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 дня или в течение 1-7, 7-14 или 14-21 дня; или

увеличение размера популяции, например изменение в по меньшей мере 1,5, 2, 2,5, 3, 4, 5, 5, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 раз или больше по количеству клеток, например, в до приблизительно 40 или 50 раз, например, при условиях роста из примера 1.

43. Способ по любому из пп. 38-42, дополнительно включающий анализ метаболизма глюкозы в популяции иммунных эффекторных клеток с определением величины метаболизма глюкозы, например, с помощью анализа поглощения 2-NBDG, например,

анализа из примера 1.

44. Способ по любому из пп. 38-43, дополнительно включающий сравнение величины метаболизма глюкозы с эталонной величиной.

45. Способ по любому из пп. 38-44, дополнительно включающий, с учетом результатов сравнения величины метаболизма глюкозы с эталонной величиной, проведение одного или нескольких из:

классификации популяции как подходящей или не подходящей для применения в качестве терапевтического средства;

составления или упаковывания популяции или ее аликвоты для терапевтического применения или

изменения параметра культивирования, например, i) изменения продолжительности времени культивирования или ii) увеличения или уменьшения концентрации ингибитора гликолиза, например, низкомолекулярного ингибитора гликолиза, например, низкомолекулярного ингибитора гексокиназы, например, аналога глюкозы, например, 2-дезоксид-глюкозы (2-DG).

46. Способ по любому из пп. 38-45, дополнительно включающий приведение популяции иммунных эффекторных клеток в контакт с активатором Stat3, приведенным в п. 1 или популяцией клеток, приведенной в п. 3 или 4.

47. Способ по любому из пп. 1-37, дополнительно включающий приведение популяции иммунных эффекторных клеток в контакт с ингибитором гликолиза, например, низкомолекулярным ингибитором гликолиза, например, низкомолекулярным ингибитором гексокиназы, например, аналогом глюкозы, например, 2-дезоксид-глюкозой (2-DG).

48. Способ по любому из предыдущих пунктов, где (b) проводят перед (c), (c) проводят перед (b) или (b) и (c) проводят одновременно.

49. Способ по любому из предыдущих пунктов, где нуклеиновая кислота представляет собой ДНК или РНК.

50. Способ по любому из предыдущих пунктов, где (b) включает проведение лентивирусной трансдукции для доставки нуклеиновой кислоты в иммунные эффекторные клетки.

51. Способ по любому из предыдущих пунктов, дополнительно включающий приведение популяции иммунных эффекторных клеток в контакт с популяцией клеток, которые экспрессируют антиген (например, CD19), связывающийся с CAR.

52. Способ по любому из предыдущих пунктов, дополнительно включающий приведение популяции иммунных эффекторных клеток в контакт со средством, которое стимулирует передачу сигнала, ассоциированного с комплексом CD3/TCR и лигандом, который стимулирует костимулирующую молекулу на поверхности клеток, например, где средство представляет собой гранулу, конъюгированную с антителом к CD3 или его фрагментом и/или антителом к CD28 или его фрагментом.

53. Способ по любому из предыдущих пунктов, где полипептид CAR представляет собой CAR для CD19, CAR для CD22, CAR для CD123, CAR для BCMA, CAR для EGFRvIII, CAR для CLL-1, CAR для CD20 или CAR для CD33.

54. Способ по любому из предыдущих пунктов, где CAR представляет собой CAR для CD19, например, CAR, содержащий аминокислотную последовательность scFv под SEQ ID NO: 39-51 или CAR, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 77-89.

55. Способ по любому из предыдущих пунктов, где CAR содержит молекулу антитела, которая содержит связывающий домен антитела к CD19, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий стимулирующий домен и где указанный связывающий домен антитела к CD19 содержит одну или несколько из

области 1, определяющей комплементарность, легкой цепи (CDR1 LC), области 2, определяющей комплементарность, легкой цепи (CDR2 LC) и области 3, определяющей комплементарность, легкой цепи (CDR3 LC) с любой аминокислотной последовательностью легкой цепи связывающего домена антитела к CD19, приведенной в таблице 3В и одну или несколько из области 1, определяющей комплементарность, тяжелой цепи (CDR1 HC), области 2, определяющей комплементарность, тяжелой цепи (CDR2 HC) и области 3, определяющей комплементарность, тяжелой цепи (CDR3 HC) с любой аминокислотной последовательностью тяжелой цепи связывающего домена антитела к CD19, приведенной в таблице 3А.

56. Способ по п. 50, где связывающий домен антитела к CD19 содержит последовательность под SEQ ID NO: 40 или SEQ ID NO: 51.

57. Способ по любому из пп. 54-56, где CAR содержит полипептид имеющий последовательность под SEQ ID NO: 78 или SEQ ID NO: 89.

58. Реакционная смесь, содержащая:

а) (i) популяцию иммунных эффекторных клеток, экспрессирующих CAR (например, клетку, экспрессирующую CAR, описанную в данном документе, например, клетку, экспрессирующую CAR для CD19) или (ii) иммунную эффекторную клетку и нуклеиновую кислоту, кодирующую CAR (например, CAR, описанный в данном документе, например, CAR для CD19); и

б) средство, выбранное из:

(i) активатора Stat3;

(ii) клетки или популяции клеток, приведенных в п. 3 или 4; или

(iii) молекулы gp130 или молекулы Stat3 или нуклеиновой кислоты, кодирующей молекулу gp130 или молекулу Stat3.

59. Реакционная смесь по п. 58, где активатор Stat3 выбран из:

б-i-i) активатора gp130, например, молекулы антитела, которая связывается с gp130, например, антитела к gp130, описанного в данном документе или молекулы IL-6, молекулы IL-11, молекулы IL-27, молекулы CNTF, молекулы CT-1, молекулы CLC, молекулы LIF, молекулы NP, молекулы OSM;

б-i-ii) растворимого рецептора IL-6 (sIL-6R), например, описанного в данном документе;

б-i-iii) комплекса IL-6/IL-6R, например, димера, например, описанного в данном документе;

б-i-iv) цитокина из семейства IL-6 (например, молекулы IL-6, молекулы IL-11, молекулы IL-27, молекулы IL-31, молекулы CNTF, молекулы CT-1, молекулы CLC, молекулы LIF, молекулы NP или молекулы OSM);

б-i-v) молекулы CCL20;

б-i-vi) активатора рецептора IL-10R2 (IL-10R2), например, молекулы IL-10, молекулы IL-22, молекулы IL-26, молекулы IL-28A, молекулы IL-28B, молекулы IL-29 или молекулы антитела, которая связывается с IL-10R2, например, описанной в данном документе;

б-i-vii) цитокина из семейства IL-10 (например, молекулы IL-10, молекулы IL-19, молекулы IL-20, молекулы IL-22, молекулы IL-24, молекулы IL-26, молекулы IL-28A, молекулы IL-28B или молекулы IL-29);

б-i-viii) цитокина из семейства IL-17 (например, молекулы IL17A, молекулы IL17B, молекулы IL17C, молекулы IL17D, молекулы IL17E или молекулы IL17F); или

б-i-ix) молекулы IL-23.

60. Реакционная смесь по п. 58 или 59, которая содержит (а)(i) популяцию иммунных эффекторных клеток, экспрессирующих CAR.

61. Реакционная смесь по п. 58 или 59, которая содержит (а)(ii) нуклеиновую кислоту, кодирующую CAR (например, CAR, описанный в данном документе, например, CAR



для CD19).

62. Реакционная смесь по любому из пп. 58-61, которая содержит (b)(i) активатор Stat3, приведенный в п. 59.

63. Реакционная смесь по любому из пп. 58-61, которая содержит (b)(ii) клетку или популяцию клеток, приведенные в п. 3 или 4.

64. Реакционная смесь по любому из пп. 58-61, которая содержит (b)(iii) молекулу gp130 или молекулу Stat3 или нуклеиновую кислоту, кодирующую их.

65. Реакционная смесь по п. 58, которая содержит: (a)(i) популяцию иммунных эффекторных клеток, экспрессирующих CAR; и (b)(i) активатор Stat3, приведенный в п. 59.

66. Реакционная смесь по п. 58, которая содержит: (a)(i) популяцию иммунных эффекторных клеток, экспрессирующих CAR; и (b)(ii) клетку или популяцию клеток, приведенные в п. 3 или 4.

67. Реакционная смесь по п. 58, которая содержит: (a)(i) популяцию иммунных эффекторных клеток, экспрессирующих CAR; и (b)(iii) молекулу gp130 или молекулу Stat3 или нуклеиновую кислоту, кодирующую их.

68. Реакционная смесь по п. 58, которая содержит: (a)(ii) нуклеиновую кислоту, кодирующую CAR; и (b)(i) активатор Stat3, приведенный в п. 59.

69. Реакционная смесь по п. 58, которая содержит: (a)(ii) нуклеиновую кислоту, кодирующую CAR; и (b)(ii) клетку или популяцию клеток по п. 3 или 4.

70. Реакционная смесь по п. 53, которая содержит: (a)(ii) нуклеиновую кислоту, кодирующую CAR; и (b)(iii) молекулу gp130 или молекулу Stat3 или нуклеиновую кислоту, кодирующую молекулу gp130 или молекулу Stat3.

71. Реакционная смесь по любому из пп. 58-62, 65 или 68, которая содержит одно или несколько из:

(a)(i) и b-i-i); (a)(i) и b-i-ii); (a)(i) и b-i-iii); (a)(i) и b-i-iv); (a)(i) и b-i-v); (a)(i) и b-i-vi); (a)(i) и b-i-vii); (a)(i) и b-i-viii); (a)(ii) и b-i-i); (a)(ii) и b-i-ii); (a)(ii) и b-i-iii); (a)(ii) и b-i-iv); (a)(ii) и b-i-v); (a)(ii) и b-i-vi); (a)(ii) и b-i-vii) и (a)(ii) и b-i-viii).

72. Реакционная смесь, содержащая:

а) популяцию иммунных эффекторных клеток, экспрессирующих CAR, например, клетку, экспрессирующую CAR, описанную в данном документе, например, клетку, экспрессирующую CAR для CD19 и

б) ингибитор гликолиза, например, низкомолекулярный ингибитор гликолиза, например, низкомолекулярный ингибитор гексокиназы, например, аналог глюкозы, например, 2-дезоксид-глюкозу (2-DG).

73. Реакционная смесь, содержащая:

а) популяцию иммунных эффекторных клеток,

б) нуклеиновую кислоту, кодирующую CAR, например, CAR, описанный в данном документе, например, CAR для CD19 и

с) ингибитор гликолиза, например, низкомолекулярный ингибитор гликолиза, например, низкомолекулярный ингибитор гексокиназы, например, аналог глюкозы, например, 2-дезоксид-глюкозу (2-DG).

74. Реакционная смесь по п. 72 или 73, где ингибитор гликолиза, например, 2-DG, присутствует в концентрации, составляющей по меньшей мере 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 мМ, 0,5-2,5 мМ или 1-2 мМ.

75. Реакционная смесь по любому из пп. 72-74, дополнительно содержащая активатор Stat3;

клетку или популяцию клеток; или молекулу gp130 или молекулу Stat3 или нуклеиновую кислоту, кодирующую молекулу gp130 или молекулу Stat3, приведенные в п. 58 или 59.

76. Реакционная смесь по любому из пп. 59-71, дополнительно содержащая ингибитор гликолиза, например, низкомолекулярный ингибитор гликолиза, например, низкомолекулярный ингибитор гексокиназы, например, аналог глюкозы, например, 2-дезоксид-глюкозу (2-DG).

77. Реакционная смесь по любому из пп. 59-76, дополнительно содержащая лентивирус, например, где нуклеиновая кислота, кодирующая CAR, упакована в лентивирус.

78. Реакционная смесь по любому из пп. 58-77, где нуклеиновая кислота представляет собой ДНК или РНК.

79. Реакционная смесь по любому из пп. 58-78, дополнительно содержащая популяцию клеток, которые экспрессируют антиген (например, CD19), связывающийся с CAR.

80. Способ оценивания или прогнозирования восприимчивости субъекта, у которого имеется рак (например, рак, описанный в данном документе), к терапевтическому лечению клеткой, экспрессирующей CAR, например, до введения клетки, экспрессирующей CAR, включающий оценивание в иммунной эффекторной клетке, полученной от субъекта:

i) уровня метаболизма глюкозы, где:

уровень метаболизма глюкозы, более низкий, чем эталонная величина метаболизма глюкозы, указывает на то, что субъект с большой вероятностью отвечает на лечение клеткой, экспрессирующей CAR, например, демонстрирует полный ответ или частичный ответ, а

уровень метаболизма глюкозы, более высокий, чем эталонная величина метаболизма глюкозы, указывает на то, что субъект с меньшей вероятностью отвечает на лечение клеткой, экспрессирующей CAR, например, не демонстрирует полный ответ или частичный ответ; или

ii) уровня активации Stat3 измеряемого, например, по фосфорилированию Stat3 (например, по тирозину 705 (Y705)) или уровню или активности транскрипционных мишеней Stat3 (например, c-Myc, c-Fos, Sox2 или Bcl-2), где:

уровень активации Stat3, более высокий, чем эталонная величина активации Stat3, указывает на то, что субъект с большой вероятностью отвечает на лечение клеткой, экспрессирующей CAR, например, демонстрирует полный ответ или частичный ответ, а

уровень активации Stat3, более низкий, чем эталонная величина активации Stat3, указывает на то, что субъект с меньшей вероятностью отвечает на лечение клеткой, экспрессирующей CAR, например, не демонстрирует полный ответ или частичный ответ,

за счет чего обеспечивается оценивание субъекта или прогнозирование восприимчивости субъекта к клетке, экспрессирующей CAR.

81. Способ по п. 80, где иммунная эффекторная клетка не была приведена в контакт с нуклеиновой кислотой, кодирующей CAR.

82. Способ по п. 80, где иммунная эффекторная клетка была приведена в контакт с нуклеиновой кислотой, кодирующей CAR, например, она экспрессирует полипептид CAR.

83. Способ по любому из пп. 80-82, где иммунная эффекторная клетка была приведена в контакт с:

i) активатором Stat3, приведенным в п. 1;

ii) клеткой или популяцией клеток, приведенными в п. 3 или 4;

iii) молекулой gp130 или молекулой Stat3 или нуклеиновой кислотой, кодирующей молекулу gp130 или молекулу Stat3; или

iv) ингибитором гликолиза, например, низкомолекулярным ингибитором гликолиза,

например, низкомолекулярным ингибитором гексокиназы, например, аналогом глюкозы, например, 2-дезоксид-глюкозой (2-DG), в концентрации, составляющей по меньшей мере 0,5, 1, 1,5, 2 или 2,5 мМ.

84. Способ по любому из пп. 80-83, где способ дополнительно включает определение кратности изменения количества клеток, например, количества клеток, экспрессирующих CAR.

85. Способ по любому из пп. 80-84, где для субъекта, который с меньшей вероятностью отвечает на лечение клеткой, экспрессирующей CAR, прогнозируют, например, то, что у него отсутствует полный ответ (CR) или частичный ответ (PR), например, то, что он является субъектом, не отвечающим на лечение (NR).

86. Способ по любому из пп. 80-85, где с учетом определения того, что:

i) уровень метаболизма глюкозы является более низким, чем эталонная величина метаболизма глюкозы; или

ii) уровень активации Stat3 является более высоким, чем эталонная величина активации Stat3,

субъекта выбирают для введения терапевтического средства, характеризующегося экспрессией CAR или ему вводят это средство.

87. Способ по любому из пп. 80-85, где с учетом определения того, что:

i) уровень метаболизма глюкозы является более высоким, чем эталонная величина метаболизма глюкозы; или

ii) уровень активации Stat3 является более низким, чем эталонная величина активации Stat3,

субъекта выбирают для введения терапевтического средства, отличного от терапевтического средства, характеризующегося экспрессией CAR или ему вводят это средство.

88. Способ по любому из пп. 80-87, где эталонная величина метаболизма глюкозы представляет собой величину метаболизма глюкозы в клетке субъекта с полным ответом на лечение, как описано в примере 1, например, где клетку (например, образец, содержащий клетку) приводят в контакт со средством имитационной стимуляции, например, осуществляют стимуляцию антигеном, отличным от антигена для CAR, например, как описано в примере 1.

89. Способ по любому из пп. 80-87, где эталонная величина активации Stat3 представляет собой величину активации Stat3 в клетке субъекта, не отвечающего на лечение, например, как описано в примере 2.

90. Способ оценивания или прогнозирования восприимчивости субъекта, у которого имеется рак (например, рак, описанный в данном документе), где субъект получал лечение клеткой, экспрессирующей CAR, включающий оценивание в клетке, экспрессирующей CAR, полученной от субъекта:

i) уровня метаболизма глюкозы, где:

уровень метаболизма глюкозы, более низкий, чем эталонная величина метаболизма глюкозы, указывает на то, что субъект с большей вероятностью отвечает на лечение клеткой, экспрессирующей CAR, например, демонстрирует полный ответ или частичный ответ, а

уровень метаболизма глюкозы, более высокий, чем эталонная величина метаболизма глюкозы, указывает на то, что субъект с меньшей вероятностью отвечает на лечение клеткой, экспрессирующей CAR, например, не демонстрирует полный ответ или частичный ответ; или

ii) уровня активации Stat3 измеряемого, например, по фосфорилированию Stat3 (например, по тирозину 705 (Y705)) или уровню или активности транскрипционных мишеней Stat3 (например, c-Myc, c-Fos, Sox2 или Bcl-2), где:

уровень активации Stat3, более высокий, чем эталонная величина активации Stat3, указывает на то, что субъект с большой вероятностью отвечает на лечение клеткой, экспрессирующей CAR, например, демонстрирует полный ответ или частичный ответ, а

уровень активации Stat3, более низкий, чем эталонная величина активации Stat3, указывает на то, что субъект с меньшей вероятностью отвечает на лечение клеткой, экспрессирующей CAR, например, не демонстрирует полный ответ или частичный ответ,

за счет чего обеспечивается оценивание субъекта или прогнозирование восприимчивости субъекта к клетке, экспрессирующей CAR.

91. Способ по п. 90, дополнительно включающий получение клетки, экспрессирующей CAR, от субъекта до оценивания уровня метаболизма глюкозы или уровня активации Stat3 в клетке, экспрессирующей CAR.

92. Способ по п. 90 или 91, где для субъекта, который с меньшей вероятностью отвечает на лечение клеткой, экспрессирующей CAR, прогнозируют, например, то, что у него отсутствует полный ответ (CR) или частичный ответ (PR), например, то, что он является субъектом, не отвечающим на лечение (NR).

93. Способ по любому из пп. 90-92, где с учетом определения того, что:

i) уровень метаболизма глюкозы является более низким, чем эталонная величина метаболизма глюкозы; или

ii) уровень активации Stat3 является более высоким, чем эталонная величина активации Stat3,

субъекта выбирают для введения одной или нескольких дополнительных доз терапевтического средства, характеризующегося экспрессией CAR или ему вводят эти дозы.

94. Способ по любому из пп. 90-93, где с учетом определения того, что:

i) уровень метаболизма глюкозы является более высоким, чем эталонная величина метаболизма глюкозы; или

ii) уровень активации Stat3 является более низким, чем эталонная величина активации Stat3,

субъекта выбирают для введения терапевтического средства, отличного от терапевтического средства, характеризующегося экспрессией CAR или ему вводят это средство.

95. Способ по любому из пп. 90-94, где эталонная величина метаболизма глюкозы представляет собой величину метаболизма глюкозы в клетке субъекта с полным ответом на лечение, как описано в примере 1, например, где клетку (например, образец, содержащий клетку) приводят в контакт со средством имитационной стимуляции, например, осуществляют стимуляцию антигеном, отличным от антигена для CAR, например, как описано в примере 1.

96. Способ по любому из пп. 90-95, где эталонная величина активации Stat3 представляет собой величину активации Stat3 в клетке субъекта, не отвечающего на лечение, например, как описано в примере 2.

97. Способ оценивания клетки, экспрессирующей CAR, например, клетки, экспрессирующей CAR19 (например, CTL019), при этом указанный способ включает оценивание в клетке, экспрессирующей CAR, в образце, полученном от субъекта:

i) уровня метаболизма глюкозы, где:

уровень метаболизма глюкозы, более низкий, чем эталонная величина метаболизма глюкозы, указывает на то, что образец подходит для лечения, а

уровень метаболизма глюкозы, более высокий, чем эталонная величина метаболизма глюкозы, указывает на то, что образец в меньшей степени подходит для лечения; или

ii) уровня активации Stat3, где:  
 уровень активации Stat3, более высокий, чем эталонная величина активации Stat3, указывает на то, что образец подходит для лечения, а  
 уровень активации Stat3, более низкий, чем эталонная величина активации Stat3, указывает на то, что образец в меньшей степени подходит для лечения,  
 за счет чего обеспечивается оценивание клетки, экспрессирующей CAR.

98. Способ по п. 97, дополнительно включающий получение клетки, экспрессирующей CAR, от субъекта до оценивания уровня метаболизма глюкозы или активации Stat3 в клетке, экспрессирующей CAR.

99. Способ по п. 97 или 98, где с учетом определения того, что:

i) уровень метаболизма глюкозы является более низким, чем эталонная величина метаболизма глюкозы; или  
 ii) уровень активации Stat3 является более высоким, чем эталонная величина активации Stat3,

образец выбирают для введения или вводят субъекту.

100. Способ по п. 97 или 98, где с учетом определения того, что:

i) уровень метаболизма глюкозы является более высоким, чем эталонная величина метаболизма глюкозы,  
 ii) уровень активации Stat3 является более низким, чем эталонная величина активации Stat3,

образец не выбирают для введения или не вводят субъекту.

101. Способ по любому из пп. 97-100, где эталонная величина метаболизма глюкозы представляет собой величину метаболизма глюкозы в клетке субъекта с полным ответом на лечение, как описано в примере 1, например, где клетку (например, образец, содержащий клетку) приводят в контакт со средством имитационной стимуляции, например, осуществляют стимуляцию антигеном, отличным от антигена для CAR, например, как описано в примере 1.

102. Способ по любому из пп. 97-100, где эталонная величина активации Stat3 представляет собой величину активации Stat3 в клетке субъекта, не отвечающего на лечение, например, как описано в примере 2.